

Original Investigations

НЕОДНОРОДНОСТЬ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ПРИ ДЕФИБРИЛЛЯЦИИ СЕРДЦА

О. Е. Гудкова¹, А. П. Козлов²¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, 25, стр. 2² Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России
Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Non-Uniformity of the Distribution of Electrical Transmembrane Potentials in Cardiac Defibrillation

O. E. Gudkova¹, A. P. Kozlov²¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology
25, Petrovka St, Build. 2, Moscow 107031, Russia² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia
8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991, Russia

Одной из проблем современной реаниматологии является необходимость экстренного прекращения фибрилляции желудочков сердца. Несмотря на поиски новых методов, существует лишь единственный эффективный метод – электрическая дефибрилляция сердца.

Цель работы — исследование действия импульсов различных форм на мембраны клеток в модельном эксперименте и оценка их использования для проведения эффективной дефибрилляции сердца.

Материалы и методы. Для теоретического анализа пространственного распределения электрического поля в мембране эритроцитов использовалась модель Максвелла. Расчет электрического воздействия на отдельную клетку проведен по полученным экспериментальным данным и исходя из эквивалентной электрической схемы структуры миокарда при проведении процедуры дефибрилляции. Рассчитывали потенциал, наводимый на мембране кардиомиоцита при воздействии разряда дефибриллятора. Изучали воздействие монополярного, двух однополярных и двух разнополярных импульсов на мембраны эритроцитов.

Результаты. Наблюдается неаддитивность скоростей при двукратном действии по сравнению с однократным. Одиночный импульс вызывает меньший эффект электропорации, чем два двойных. При электрической дефибрилляции сердца последовательно реализуются процессы гиперполяризации и деполяризации мембран кардиомиоцитов.

Заключение. Два разнополярных импульса с большей вероятностью вызывают эффект электропорации биологических мембран по сравнению с двумя однополярными.

Ключевые слова: электрическая дефибрилляция сердца; импульсное электрическое поле; суспензия эритроцитов; мембрана; кинетическая кривая

The need for emergency cessation of ventricular fibrillation is one of the problems of modern reanimatology. In spite of searches for novel methods, there is the only effective method — electrical cardiac defibrillation.

Objective: to investigate the effect of different forms of pulses on cell membranes in a model experiment and to assess their use for effective cardiac defibrillation.

Materials and methods. The Maxwell model was used for theoretical analysis of the spatial distribution of an electric field in the red blood cell membrane. The electric effect on a single cell was calculated using the experimental findings and the equivalent electrical circuit of the myocardial structure during a defibrillation procedure.

Адрес для корреспонденции:

Ольга Гудкова
E-mail: orbf@mail.ru

Correspondence to:

Olga Gudkova
E-mail: orbf@mail.ru

The cardiomyocyte membrane potential upon exposure to defibrillator discharge was estimated. Exposure of the red blood cell membrane to single, two unipolar and two heteropolar pulses was examined.

Results. There is non-additivity of speeds upon double exposure as compared to single one. Single pulse causes a lower effect of electroporation than two double pulses. Hyperpolarization and depolarization processes in the cardiomyocyte membranes occur successively during electrical cardiac defibrillation.

Conclusion. Two heteropolar pulses cause an effect of biological membrane electroporation with a greater probability than two unipolar ones.

Key words: *electrical cardiac defibrillation; pulsed electric field; red blood cell suspension; membrane; kinetic curve*

DOI:10.15360/1813-9779-2015-6-38-47

Введение

Одной из проблем реаниматологии остается необходимость экстренного прекращения фибрилляции желудочков сердца. Несмотря на поиски новых методов, существует лишь единственный эффективный метод — электрическая дефибрилляция сердца [1] — экстренное прекращение фибрилляции желудочков сердца с помощью высоковольтного импульсного электрического поля [2].

Процесс действия электрического поля на мембрану кардиомиоцита представляет большой интерес и исследуется как экспериментально, так и теоретически [3].

Фундаментальные работы по изучению эффективности дефибрилляции в зависимости от амплитуды импульса, его формы и длительности были проведены в Институте общей реаниматологии РАМН Н. Л. Гурвичем, В. Я. Табаком, М. С. Богусевич и их соавторами. Эффекты действия электрического поля зависят от напряженности поля, создаваемой разрядом в структуре кардиомиоцитов. С помощью математической модели исследовалась неоднородность электрического поля в мембране кардиомиоцита при дефибрилляции [3].

В настоящей статье в модельном эксперименте на суспензии эритроцитов показаны результаты различных способов воздействия импульсного электрического поля на мембраны красных клеток крови. С помощью математической модели показано возникновение гипер- и деполяризации кардиомиоцита при дефибрилляции.

Эффект электропорации зависит не только от напряженности электрического поля [4, 5], но и от формы дефибриллирующего импульса [6]. Клинические [7–9] и экспериментальные [10, 11–14] исследования показывают, что эффективность биполярного импульса Гурвича [15] выше эффективности однополярного импульса Edmark [15], хотя эти различия носят статистический характер [16].

Цель работы — исследование действия импульсов различных форм на мембраны клеток в модельном эксперименте и оценка их использования для проведения эффективной дефибрилляции сердца.

Introduction

One of the problems of reanimatology is a need in emergency termination of ventricular fibrillation. Despite the search for new methods, there is only one effective method, electrical heart defibrillation [1]. Electrical heart defibrillation is an extraordinary termination of ventricular fibrillation using high voltage impulse electric field [2].

Mechanisms of action of electric field on the cardiomyocyte membrane are of great interest and are studied in experimental and theoretical directions [3].

Fundamental studies on effectiveness of defibrillation, which depends on the amplitude of the impulse, its shape and duration were conducted in the Institute of General Reanimatology of RAMS by N. L. Gurvich, V. Y. Tobacco, M. S. Bogushevich and their co-authors. Also the effects of action of electric field depend on the field tension generated by discharge in the structure of cardiomyocytes. Heterogeneity of electric field in cardiomyocyte membrane during defibrillation was investigated using a mathematical model [3].

The results of different ways of impact of impulse electric field on red blood cell membranes are shown in this article in a model experiment on erythrocyte suspension. Appearance of cardiomyocyte hyper- and depolarization during defibrillation demonstrated also in a mathematical model [3].

Effect of electroporation depends not only on the tension of electric field [4, 5], but also on the shape of defibrillating impulse [6]. Clinical [7–9] and experimental [10, 11–14] studies have demonstrated that the efficiency of the bipolar Gurvich impulse [15] is higher than the efficiency of unipolar Edmark impulse [15], although these differences are statistical in nature [16].

The purpose of the investigation was to study the action of impulses of different forms on the cell membranes in a model experiment and evaluate their suitability for performing the effective heart defibrillation.

Materials and Methods

Method of calibrated electroporation.

The idea of a method of calibrated electroporation is that the cell placed in solution is applied to external elec-

Материал и методы

Метод калиброванной электропорации.

Идея метода калиброванной электропорации состоит в том, что на клетку, помещенную в раствор, подается внешнее электрическое поле E_0 . Наведенный на мембране потенциал вызывает ее электрический пробой. Количество образовавшихся пор является функцией от величины трансмембранного потенциала $\Delta\varphi_m$ и количества активных центров на мембране. Эффект электропорации оценивается по кинетическим кривым гемолиза $D=f(t)$ при данной величине E_0 .

Всего было проведено 87 опытов по воздействию импульсов различной формы на мембраны эритроцитов в суспензии. Все представленные экспериментальные данные обработаны с использованием стандартных программ вариационной статистики.

В качестве источника импульсного электрического поля применяли дефибрилляторы «Lifepak-7» (США) и «ДИ-03» (РФ). Электрический импульс подводили к титановым электродам, которые помещали в кварцевую кювету. В нее наливали 3 мл суспензии. Расстояние между силовыми электродами составляло 17 мм. Electrodes полностью покрывали боковые стороны кюветы, что обеспечивало однородность создаваемого электрического поля в растворе. Сопротивление суспензии составляло 100 ± 5 Ом. Для энергии импульса 230 Дж амплитуда напряжения импульса составила 2900 В, что соответствует 1700 В/см в суспензии. Этот импульс был выбран в качестве калиброванного [1, 6].

Эритроциты подвергали воздействию одиночного импульса, двух однополярных и двух разнополярных импульсов, представленных на рис. 1. Длительность одиночного импульса была 10 мс, двойных однополярных и разнополярных импульсов 6 мс, время между двойными импульсами 0,5 с, амплитуда импульсов составляла 3100 В. При воздействии электрического поля происходит гемолиз эритроцитов, что приводит к уменьшению оптической плотности D суспензии. График зависимости $D(t)$ называется кинетической кривой. Эту зависимость регистрировали с помощью фотоэлектроколориметра «КФК-2». Измерение оптической плотности суспензии проводили на длине волны $\lambda=750$ нм, так как на данной длине волны ослабление интенсивности исходного пучка света определялось только рассеянием света на эритроцитах. При малых концентрациях эритроцитов оптическая плотность суспензии D прямо пропорциональна их концентрации $D=kn$ (k -коэффициент ослабления, n -концентрация эритроцитов). Поэтому, измеряя оптическую плотность суспензии в момент времени t (величину $D(t)$), можно получить информацию о концентрации эритроцитов $n(t)$. Для каждого вида импульса построены кинетические кривые $D(t)$.

Распределение электрического поля в мембране кардиомиоцита.

Для теоретического анализа пространственного распределения электрического поля в мембране кардиомиоцитов использовали модель Максвелла.

В модели учитывался потенциал покоя кардиокардиомиоцита и наведенный трансмембранный потенциал от внешнего электрического поля. Принималась во внимание неоднородность электрического поля во времени для биполярного импульса. Учитывалась его ам-

плитуда E_0 . Potential induced on the membrane causes its electrical breakdown. A number of formed pores is a function of the value of transmembrane potential $\Delta\varphi_m$ and the number of active centers on the membrane. The effect of electroporation is estimated by kinetic curves of hemolysis $D = f(t)$ for a given value E_0 .

87 experiments on the effects of impact of impulses of different forms on the red blood cells in suspension were conducted. Experimental data were processed using standard programs of variation statistics.

Defibrillators «Lifepak-7» (USA) and «ДИ-03» (Russia) were used as the sources of pulsed electric field. The source of electric impulse were titanium electrodes placed in a quartz cuvette. Three ml of suspension were poured into the cuvette. The distance between the power electrodes was 17 mm. The electrodes completely covered the sides of the cuvette thus ensuring homogeneity of the electric field in the solution. Resistance of this suspension was 100 ± 5 ohms. For the energy of impulse of 230 J the amplitude of impulse was 2900 V corresponded to 1700 V/sm in the suspension. This impulse was selected as calibrated one [1, 6].

Red blood cells were exposed to a single impulse, two monopolar and two bipolar impulses as shown on the Fig. 1. Single impulse duration was 10 ms, durations of two unipolar and two bipolar double impulses were 6 ms each, time between two double impulses was 0.5 s. Under an impact of a pulse field the hemolysis occurred resulting in a decrease of optical density D of the suspension. Graph of $D(t)$ is called kinetic curve. This dependence was lifted with the use of photoelectrocolorimeter «KFK-2». Measurement of optical density of suspension was carried out at the suspension wavelength of $\lambda=750$ nm because at a given wavelength an attenuation of intensity of the initial light beam determined only by the absorption of light by red blood cells. At low concentrations of erythrocytes, the optical density of suspension D is directly proportional to their concentration $D = kn$ (k -attenuation coefficient, n -concentration of red blood cells). Therefore, by measuring the optical density of suspension at time t (value $D(t)$) it is possible to collect data on concentration of erythrocytes $n(t)$. For each kind of impulses the graphs of kinetic curves $D(t)$ were built [1,3].

Distribution of electrical field in cardiomyocyte membrane.

Maxwell model was used for theoretical analysis of spatial distribution of the electric field in erythrocyte membrane.

The model takes into account the resting potential of cardiomyocyte and the induced transmembrane potential by an external electric field. This takes into account the heterogeneity of the electric field in time for the bipolar impulse. It considers its amplitude and duration of the positive and negative half-wave.

Calculation of electrical effect in a single cell was carried out based on the experimental data and on the base of equivalent electrical scheme of myocardium structure. It is known that the contractile myocard is represented by syncytia cardiomyocytes and complicated network of blood vessels. The whole system is surrounded by blood, the conductivity of which is ≈ 0.6 sm/m. Parametrs between the outer and inner surface walls of the left ventricular (in parallel) include: conductivity of the blood gbl, conductivity

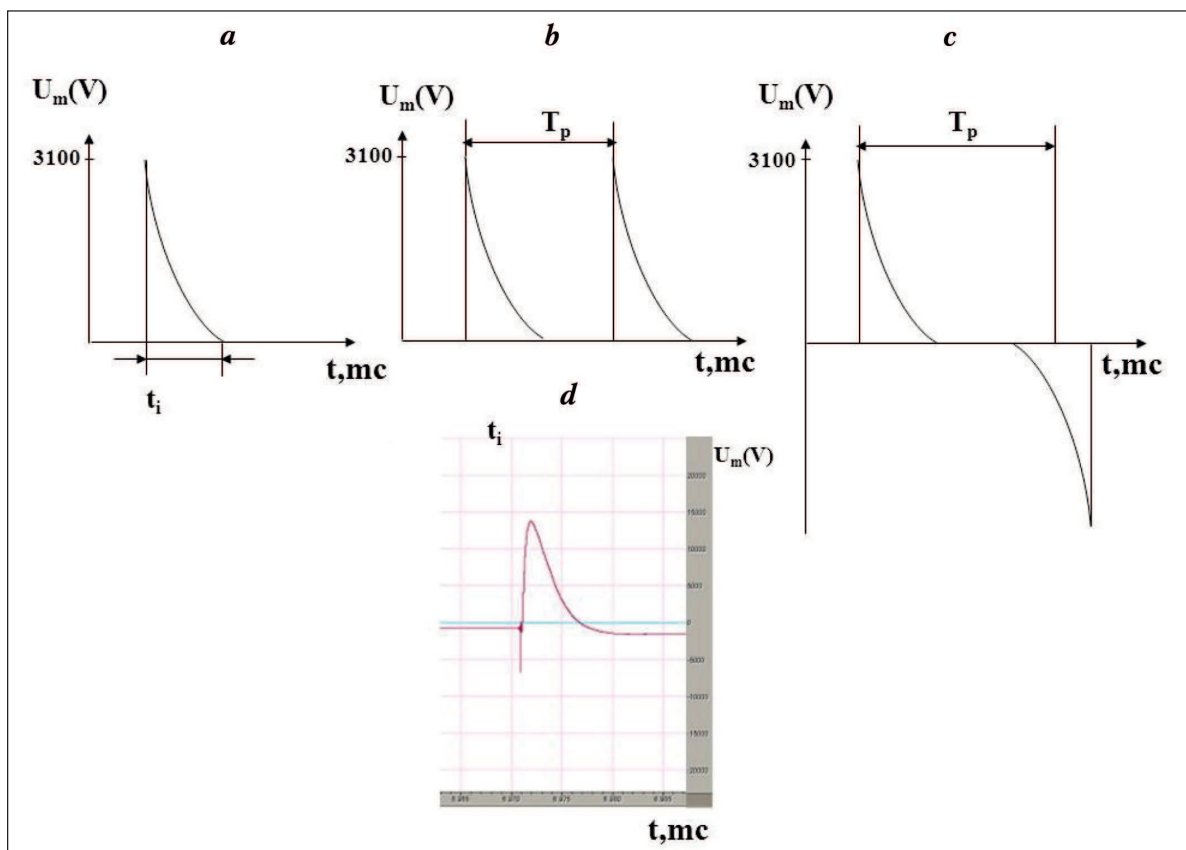


Рис. 1. Формы импульсов электрического поля.

Fig. 1. Forms of impulses of electric field.

Note: *a* — single $t_i=10$ ms; *b* — two monopolar; time between impulses $t_p=0.5$ s; *c* — two bipolar; time between impulses $t_p=0.5$ s; *d* — Electrical impulse in solution, registered with the use of measuring needles. Calibration of the axis OX — 5 ms on a cell, of the axis OY — 1000 V on a cell. Coefficient of compression 22000.

Примечание: *a* — одиночный $t_i=10$ мс; *b* — два однополярных; время между импульсами $t_p=0,5$ с; *c* — два разнополярных; время между импульсами $t_p=0,5$ с; *d* — Электрический импульс в растворе, регистрируемый с помощью измерительных иголок. Калибровка по оси OX — 5 мс на клетке, по оси OY — 1000 В на клетке. Коэффициент сжатия 22000.

литуда и длительность положительных и отрицательных полувольт.

Расчет электрического воздействия на отдельную клетку проводился по полученным экспериментальным данным и исходя из эквивалентной электрической схемы структуры миокарда. Известно, что сократительный миокард представляет собой синцитий кардиомиоцитов и сложной сети кровеносных сосудов. Эта система омывается кровью, удельная проводимость которой составляет $\approx 0,6$ См/м. Между внешней и внутренней поверхностью стенки ЛЖ включены параллельно: проводимость крови $g_{кр}$, проводимость соединительных белков $g_{б}$ и сосудов $g_{с}$; $g_{кр} \gg g_{б} > g_{с}$, кровь является шунтом во всей системе. Поэтому для создания необходимой напряженности поля на мембране необходимо подавать импульсы от дефибриллятора, имеющие высокие напряжения — от $1 \cdot 10^3$ до $5 \cdot 10^3$ В, и большие энергии от -100 до 400 Дж. Так как сопротивление сердца составляет 40–50 Ом, то токи дефибрилляции достигают десятков ампер, что показано в эксперименте и клинике.

Для рассмотрения возможных механизмов дефибрилляции необходимо рассчитать потенциал, наводи-

of connecting proteins g_p and vessels g_v : $g_{bl} \gg g_{c.p} > g_v$. Blood itself represents a shunt across the system. Therefore, for the creation of the necessary field tension on the membrane it is required to apply impulses from defibrillator at a high voltage — from $1 \cdot 10^3$ V to $5 \cdot 10^3$ V and increased energy from -100 to 400 J. Since the resistance of a heart is only 40–50 ohms, defibrillation currents reaches tens of amperes, as has been shown in experiments and clinical settings.

To consider the possible mechanisms of defibrillation, it is necessary to calculate the potential induced on a membrane of cardiomyocyte under the influence of defibrillator discharge. Cardiomyocyte is usually represented a sphere or that is closer to the real object, specifically, a rotating ellipsoid. The induced field for the dielectric rotating ellipsoid placed into the external uniform electric field depends on dielectric values of the medium and the dielectrics. The amplitude of voltage φ_n induced at the cardiomyocyte membrane as a result of action of the alternating electric field E_0 in view of the dielectric properties of the membrane and the environment is calculated as follows:

$$\varphi_n = \frac{aq_c \cos \theta E_0}{[q_c + N(q_m - q_c) \sqrt{1 + (\omega \tau)^2}]} \quad (1)$$

Original Investigations

мый на мембране кардиомиоцита при воздействии разряда дефибриллятора. Кардиомиоцит представляется сферой или, что ближе к реальному объекту, эллипсоидом вращения. Наведенное поле для диэлектрического эллипсоида вращения, помещенного во внешнее однородное электрическое поле, зависит от величин диэлектрических проницаемостей среды и диэлектрика. Амплитуда напряжения φ_n , наведенного на мембране кардиомиоцита в результате действия переменного электрического поля E_0 с учетом диэлектрических свойств мембраны и окружающей среды

$$\varphi_n = \frac{aq_e \cos \theta E_0}{[q_e + N(q_m - q_e)\sqrt{1 + (\omega\tau)^2}]} \quad (1)$$

где q_e — диэлектрическая проницаемость внешней среды; q_m — диэлектрическая проницаемость мембраны; N — обобщенный деполяризующий фактор; a — половина главной оси эллипсоида; ω — круговая частота поля переменного тока; τ — время релаксации; θ — угол между нормалью к плоскости мембраны и направлением вектора напряженности поля.

Если кардиомиоцит принять за сферу с радиусом r , то наведенный трансмембранный потенциал вычисляется по формуле:

$$\varphi_n = 1,5E_0r \cos \theta \quad (2)$$

Для $r=15$ мкм, $E_0=80$ В/см величина наведенного трансмембранного потенциала $\varphi_n^+=180$ мВ. Так как биполярный импульс имеет соотношение полувольт 1:0.5, то положительная полуволна создает при этом $\varphi_n^+=120$ мВ, а отрицательная $\varphi_n^-=60$ мВ. Для кардиомиоцита, имеющего форму эллипсоида вращения с главной осью $a=50$ мкм и побочной $c=25$ мкм, что близко к его реальным размерам, и расположенного главной осью параллельно вектору напряженности поля, $E_0=80$ В/см, $\varphi_n^+=248$ мВ. С учетом соотношения полувольт, $\varphi_n^+=165$ мВ, $\varphi_n^-=83$ мВ. В общем случае φ_n будет зависеть от положения главной оси эллипсоида по отношению к приложенному полю. В рассматриваемом случае, кардиомиоцит расположен перпендикулярно вектору напряженности поля, и $N=0,6$, и изменение φ_n составляет менее 3%. Таким образом, наведенный на мембране клетки потенциал практически не зависит от места приложения электродов на поверхности интактного сердца, что и наблюдается в эксперименте.

Результаты и обсуждение

Регистрация импульса в растворе.

Изменение импеданса наружного раствора существенно влияет на показатели пробоя мембран. Поэтому при исследовании воздействия импульсного электрического поля на биологические мембраны с целью их электропорации необходимо регистрировать напряженность электрического поля, длительность и форму импульса, которые формируются в объеме клеточной суспензии. Для создания порогового трансмембранного потенциала 0,3–0,5 В необходимо формировать электрическое поле в растворе с напряженностью 1000–2000 В/см длительностью импульса 5–10 мс.

Формы действующих импульсов электрического поля представлены на рис. 1 а, б, в, а результирующая форма монополярного импульса в мо-

where q_e — dielectric constant of external environment, q_m — dielectric permeability of membrane, N — generalized depolarizing factor, a — half of major axis of ellipsoid, ω — angular frequency of alternating current, τ — relaxation time, θ — the angle between normal to the membrane surface and direction of the vector of field tension. If cardiomyocyte is considered as a sphere with a radius r , the induced transmembrane potential should be calculated as follows:

$$\varphi_n = 1,5E_0r \cos \theta \quad (2)$$

For, $r=15$ мкм, $E_0=80$ В/см, the value of induced potential $\varphi_n^+=180$ мВ. Since the bipolar impulse has a half-wave ratio of 1:0.5, the positive half-wave at the same time creates $\varphi_n^+=120$ мВ, and negative $\varphi_n^-=60$ мВ. For cardiomyocyte, as a rotating ellipsoid with main axis of $a=50$ мкм and an indirect axis $c=25$ мкм (that is close to its actual dimensions), the principal axis disposes parallel to the vector of voltage field, $E_0=80$ В/см, $\varphi_n^+=248$ мВ. Taking into account the ratio of half-waves $\varphi_n^+=165$ мВ, $\varphi_n^-=83$ мВ, φ_n will depend on the position of the main axis of the ellipsoid with respect to the applied field. In this case cardiomyocyte is disposed perpendicularly to the vector of the field intensity, and at $N=0.6$ the change of φ_n is less than 3%. Thus, the potential induced on a cell membrane is practically independent on the site of application of electrodes on the surface of intact heart, as has been observed in an experiment.

Results and Discussion

Registration of impulse in solution.

Change of impedance of the external solution greatly affects on performance of membranes breakdown. Therefore, during study of pulsed electric field on biological membrane for the purpose of electroporation it is necessary to record the intensity of electric field, duration and shape of the impulse, which are formed in a cell suspension. To create a threshold transmembrane potential of 0.3–0.5 V, it is necessary to form an electric field in a solution at a strength of 1000–2000 V / cm and duration of the impulse of 5–10 ms [3].

Forms of acting impulse of electric field are shown in Fig. 1 a, b, c, and the resulting shape of monopolar impulses in modulating solution is shown in Fig. 1d. Values of transmembrane potentials $\Delta\varphi_n$ and potentials φ_n induced under the action of bipolar impulse are shown in Table 1.

During holding experiments at the time of application of pulsed electric field on the test samples in suspension the amplitude U_m and the form of impulse were registered directly in the solution. This made it possible to control the induced transmembrane potential in each series of experiments. To obtain an image of the electric impulse in solution, high-impedance dividers and analog signal computer-assisted processing program were deployed [17]. An example of a defibrillator impulse in a blood suspension is presented in Fig. 1.

It is shown that the electric field across the volume was homogeneous. The differences of amplitude

Величины трансмембранных потенциалов на кардиомиоците при биполярном дефибриллирующем импульсе.
Values of transmembrane potential on cardiomyocyte under bipolar defibrillated impulse.

Value	$\Delta\varphi_m, \text{mV}$		φ	
			φ^r, mV	φ_i^+, mV
Positive halfwave	$\Delta\varphi_m^L$	-255	-90	165
	$\Delta\varphi_m^R$	75	-90	-165
Negative halfwave	$\Delta\varphi_m^L$	-7	-90	-83
	$\Delta\varphi_m^R$	-173	-90	83

Note: $\Delta\varphi_m$ — transmembrane potential on cardiomyocyte; $\Delta\varphi_m^L$ — transmembrane potential of left side of cardiomyocyte in the moment of maximum of positive halfwave; $\Delta\varphi_m^R$ — transmembrane potential of right side of cardiomyocyte in the moment of maximum of positive halfwave; φ^r — resting potential; φ_i^+ — induced potential of positive halfwave; φ_i^- — induced potential of negative halfwave.

Примечание: Value — величина; Positive halfwave — положительная полуволна; Negative halfwave — отрицательная полуволна. $\Delta\varphi_m$ — трансмембранный потенциал на кардиомиоците; $\Delta\varphi_m^L$ — трансмембранный потенциал левой стороны кардиомиоцита в момент максимума положительной полуволны; $\Delta\varphi_m^R$ — трансмембранный потенциал правой стороны кардиомиоцита в момент максимума положительной полуволны; φ^r — потенциал покоя; φ_i^+ — наведенный потенциал положительной полуволны; φ_i^- — наведенный потенциал отрицательной полуволны.

делирующем растворе на рис. 1, *d*. Величины трансмембранных $\Delta\varphi_m$ и наведенных φ_i потенциалов при действии биполярного импульса представлены в таблице.

При проведении экспериментов в момент подачи импульсного электрического поля на исследуемые образцы суспензии и с помощью измерительных игловок регистрировали амплитуду U_m и форму импульса непосредственно в растворе. Это дало возможность контролировать наведенный трансмембранный потенциал в каждой серии опытов. Для получения изображения электрического импульса в растворе использовали высокоомные делители и программу обработки аналоговых сигналов компьютера [17]. Пример импульса дефибриллятора в суспензии крови представлен на рис. 1.

Показано, что электрическое поле по всему объему было однородно. Различия амплитуды не превышали значения ~10%, что определялось суммарной погрешностью эксперимента. Таким образом, потенциал поля падал практически линейно от электрода к электроду. Сравнение теоретической кривой зависимости амплитуды импульса от сопротивления раствора с экспериментальными данными показало, что отличия не превышали 20%. Как следует из экспериментальных данных, основная часть напряжения падает именно в растворе, а не «садится» на электродах, чего можно было бы ожидать при таких больших напряжениях.

Процесс поляризации мембраны кардиомиоцита, находящегося в покое, при действии биполярного импульса представлен на рис. 2.

На рис. 2, *a* представлена форма биполярного импульса: плюсом отмечена положительная полуволна, минусом отмечена отрицательная полуволна. На рис. 2, *b* и *c* представлено распределение трансмембранных потенциалов на кардиомиоците при действии биполярного импульса, *A* — положительная полуволна, *B* — отрицательная полуволна, *L* — левая половина клетки, *R* — правая половина клет-

do not exceed the value of the amplitude of ~10%, which was determined by the total error of experiment. Therefore, the potential of the field fell almost linearly from electrode to electrode. Comparison of theoretical curve of amplitude of impulse from resistance of solution with the experimental data showed that the differences did not exceed 20%. As follows from the experimental data, the main part of voltage drops in solution rather than «sits» on the electrodes, which would be expected at such high voltages.

The process of cardiomyocyte membrane polarization at a rest under the action of bipolar pulse is shown in Fig. 2.

Figure 2 shows a form of bipolar impulse: positive half-wave marked with a plus, whereas a negative half-wave marked with a minus. Figure 2b and 2c show the distribution of transmembrane potentials on cardiomyocytes under the influence of the bipolar impulse, *A* — positive half-wave, *B* — negative half-wave, *L* — left side of the cell, *R* — right side of the cell. Fig. 2 demonstrates induced voltage φ_i , resting potential φ^r , and membrane potential, whereas $\Delta\varphi_m$ is a transmembrane potential of the cell, $\Delta\varphi_m^R$ — transmembrane potential of the right side, $\Delta\varphi_m^L$ — transmembrane potential of the left side of cardiomyocyte, when the positive half-wave is at its maximum value. Fig. 2b demonstrates the same values at the time of a maximum negative half-wave. Under the action of a positive half-wave on the myocardium (*A*) the left side of myocyte is hyperpolarizing (A_L), and the myocyte's right side is depolarizing (A_R). Negative half-wave (*B*) inverses polarization: left one is depolarized (B_L), and the right one is hyperpolarized (B_R). Wherein, maximum of transmembrane potential difference $\Delta\varphi_m$ for myocyte at rest is defined by the equation:

$$\Delta\varphi_m = \Delta\varphi_r - \Delta\varphi_n \quad (3)$$

Thus, if we assume φ^r equal to -90 mV, left side is first hyperpolarizing to -255 mV (A_L), and then is

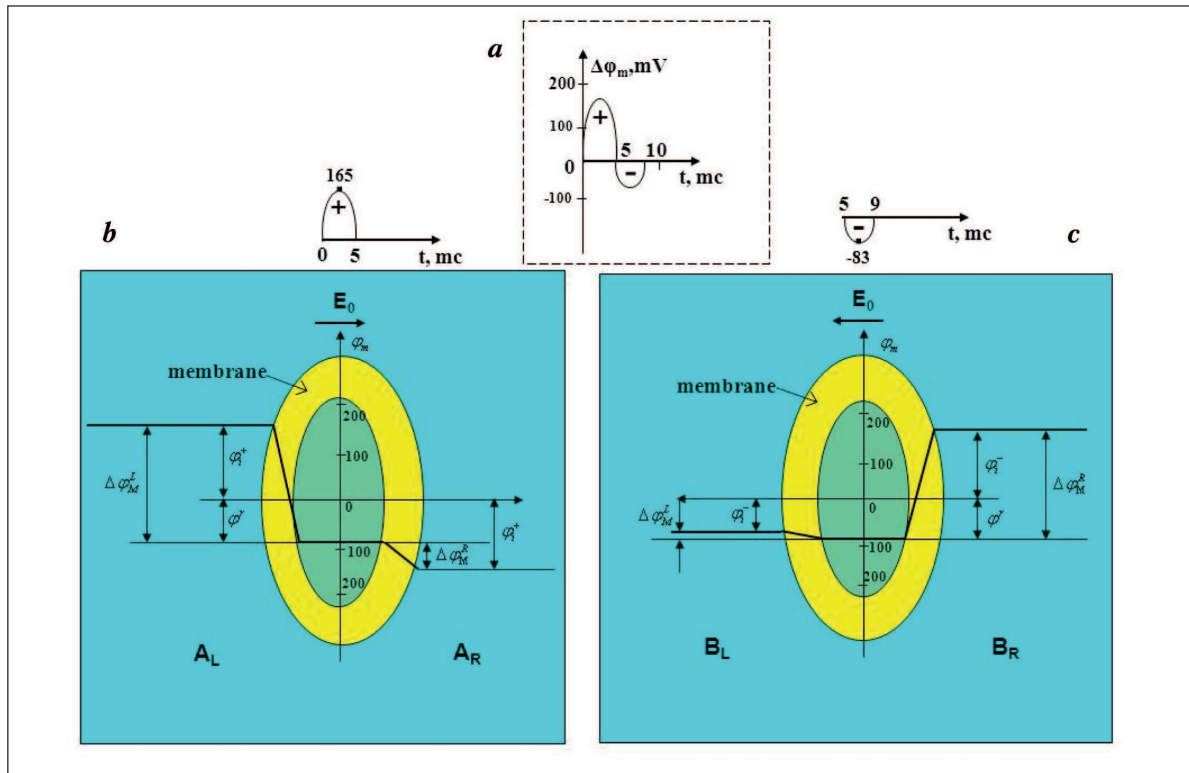


Рис. 2. Распределение трансмембранных потенциалов на кардиомиоците при действии биполярного импульса.

Fig. 2. Distribution of transmembrane potential on cardiomyocyte under the influence of bipolar impulses.

Note: *a* — form of bipolar impulse, plus marks positive halfwave, minus marks negative halfwave; *t*, *t*, time of impulse, ms, $\Delta\varphi_m$, transmembrane potential in the moment of maximum of halfwave, mV; *b* — distribution of transmembrane potential for positive halfwave: A_L — left side of a cell, A_R — right side of a cell, where φ_i^+ — induced voltage of positive halfwave, φ_i^- — induced voltage of negative halfwave, φ_r — resting potential, $\Delta\varphi_m$ — transmembrane potential in the moment of maximum of halfwave, $\Delta\varphi_m^L$ — transmembrane potential of left side, $\Delta\varphi_m^R$ — transmembrane potential of right side; *c* — distribution of transmembrane potential for negative halfwave — B: B_L — left side of a cell, B_R — right side of a cell.

Примечание: *a* — форма биполярного импульса, плюсом отмечена положительная полуволна, минусом отрицательная полуволна; *t*, время импульса, мс; $\Delta\varphi_m$, трансмембранный потенциал в момент максимума полуволны, мВ; *b* — распределение трансмембранных потенциалов для положительной полуволны: A_L — левая половина клетки; A_R — правая половина клетки; где φ_i^+ — наведенное напряжение положительной полуволны; φ_i^- — наведенное напряжение отрицательной полуволны; φ_r — потенциал покоя; $\Delta\varphi_m$ — трансмембранный потенциал в момент максимума полуволны, $\Delta\varphi_m^L$ — трансмембранный потенциал левой стороны, $\Delta\varphi_m^R$ — трансмембранный потенциал правой стороны; *c* — распределение трансмембранных потенциалов для отрицательной полуволны — B: B_L — левая половина клетки; B_R — правая половина клетки.

ки. На рис. 2, *a* показаны наведенное напряжение φ_i , потенциал покоя φ_r и трансмембранный потенциал $\Delta\varphi_m$ на клетке, $\Delta\varphi_m^L$ — трансмембранный потенциал левой стороны, $\Delta\varphi_m^R$ — трансмембранный потенциал правой стороны в момент максимума положительной полуволны, на рис. 2, *b* — в момент максимума отрицательной полуволны. При действии на миокард положительной полуволны (A) левая сторона миоцита гиперполяризуется (A_L), а правая — деполяризуется (A_R). Отрицательная полуволна (B) вызывает обратную поляризацию: левая сторона деполяризуется (B_L), а правая — гиперполяризуется (B_R). При этом максимум трансмембранной разности потенциалов $\Delta\varphi_m$ для миоцита, находящегося в покое, определяется уравнением:

$$\Delta\varphi_m = \varphi_i - \varphi_r.$$

Таким образом, если считать φ_r равным -90 мВ, левая сторона вначале гиперполяризуется до -255 мВ

depolarized to -7 mV (B_L), whereas the right side is first depolarizing to +75 mV (A_R), and then it is hyperpolarizing to -173 mV (B_R).

In experiments [3] when applying these values E_0 the most calculated transmembrane voltage appearing at the hyperpolarization during the positive half-action, was equal to -255 mV. This voltage might not be sufficient to break the membrane because the value of the breakdown voltage for a pulse duration of 10 ms is 400–600 mV.

The above facts provided reasons to believe that under the influence of external fields on the membrane at a tension 70–100 V/cm, the phenomenon of direct electrical breakdown of membranes can not yet be realized. For the occurrence of a direct electric breakdown phenomena, the voltage should be applied to the membrane at a greater than a certain value. This value of the voltage on the mem-

(A_L), а затем деполяризуется до -7 мВ (B_L), а правая сторона вначале деполяризуется до $+75$ мВ (A_R) и затем гиперполяризуется до -173 мВ (B_R).

В опытах при подаче указанных величин E_0 наибольшее рассчитанное трансмембранное напряжение, возникающее при гиперполяризации во время действия положительной полуволны, равнялось -255 мВ. Это напряжение может оказаться недостаточным для пробоя мембраны, так как величина напряжения пробоя при длительности импульса 10 мс составляет 400 – 600 мВ.

Указанные выше факты дают основание предполагать, что при воздействии на мембрану внешних полей 70 – 100 В/см явление прямого электрического пробоя мембран может еще не реализоваться. Для возникновения явления прямого электрического пробоя нужно, чтобы напряжение, подаваемое на мембрану, было больше некоторого значения. Это значение напряжения на мембране, при котором происходит электрический пробой, называется критическим напряжением пробоя. Если напряжение, подаваемое на мембрану, больше критического значения, то на мембране происходит пробой, и в ней образуются поры.

Эффекты действия электрических полей определяются сложными процессами, происходящими на мембране при действии разряда дефибриллятора. Во-первых, это последовательная гиперполяризация вначале одной стороны, а затем другой стороны мембраны. Во-вторых, это одновременная противоположная поляризация на разных сторонах клетки, с одной стороны гипер-, а с другой стороны — деполяризации. При этом на поверхности мембраны клетки в целом возникают выраженная топографическая и потенциальная неравномерности распределения трансмембранного потенциала (рис. 2). Внешнее электрическое поле, деполяризуя мембрану с одной стороны кардиомиоцита, может прикладываться к внутренним системам клетки — саркоплазматическому ретикулуму и миофибриллам, нарушая их сократительную функцию. В рассмотренном процессе действия на кардиомиоцит биполярного импульса положительная и отрицательная полуволна поочередно деполяризовали соответствующие стороны клетки, вызывая ее полную деполяризацию (рис. 2).

Результат воздействия трех форм импульса импульсного электрического поля на суспензию эритроцитов.

Результат действия двух импульсов не является удвоенным результатом воздействия одного импульса. Как показывает кинетическая кривая 1 и гистограмма, при воздействии двумя импульсами скорость уменьшения числа эритроцитов больше по сравнению со скоростью уменьшения после воздействия одного импульса. Как показывают кинетические кривые 2 и 3, при воздействии двумя разнополярными импульсами скорость

brane, in which the electric breakdown occurs is called «critical voltage of breakdown». If the voltage applied to the membrane exceeds a certain critical value, breakdown of the membrane occurs and pores are formed.

The effects of action of electric fields are determined by complex processes occurring in membrane under the action of defibrillator. Firstly, its a serial hyperpolarization of first one side and then the other side of membrane. Secondly, this is a simultaneous opposite polarization on different sides of a cell, with one side of hyper- and on the other hand — depolarization. Wherein on the surface of cell membrane as a whole there are pronounced topographic and potential unevenness distributions of transmembrane potential (Fig. 2). The external electric field, depolarizing membrane on one side of cardiomyocyte can be applied to the internal systems of a cell — the sarcoplasmic reticulum and myofibrils, altering their contractile function. In the above process of effect of bipolar impulses on cardiomyocyte the positive and negative half-waves alternately depolarized relevant parties of the cell causing its complete depolarization.

The result of influence of three forms of impulse of pulsed electric field in erythrocytes suspension.

The result of the exposure of two impulses does not represent a double action of one impulse. As the kinetic curve 1 and the histogram show, under action of two impulses the speed of decrease of the number of erythrocytes is higher than the speed of reduction after exposure to a singleimpulses. As the kinetic curves 2 and 3 shows that when membrane is exposed to two different impulses of different polarities, the rate of decreasing of number of erythrocytes is higher compared to reduction of speed after exposure to two unipolar impulses.

The graphs and the kinetic curves show that when the membrane is exposed to two impulses of different polarities, the number of erythrocytes punch is greater than under the impact of two unipolar or one single pulse.

Conclusion

Thus, the following processes are sequentially realized under electrical heart defibrillation:

1. In a first phase, in 1 – 3 ms from the discharge, the external electric field is applied to the membrane of cardiomyocytes, hyperpolarizing its negative side. Defibrillation occurring via the mechanism of electrical breakdown is possible. Since the time of effect of the field on the cell is small, the breakdown voltage must be significant, exceeding 3 – 4 -fold the threshold of defibrillation.

2. In a second stage, after the depolarization occurred, if the latter exceeded the time required to homogeneously repolarize myocardial cells, after a

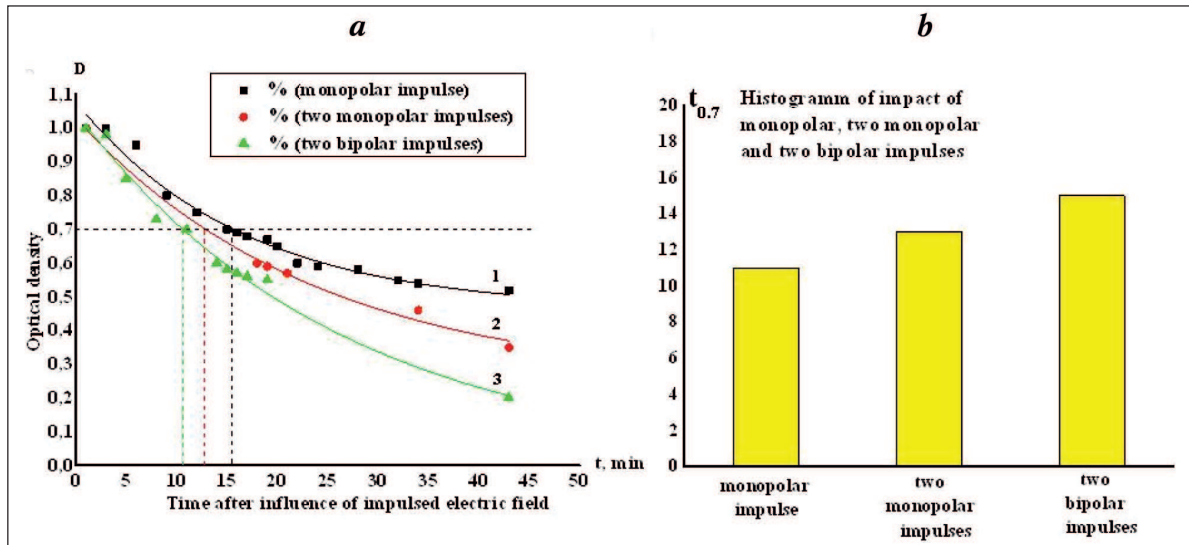


Рис. 3. Кинетические кривые (а) и эффект действия различных форм импульсов: монополярного, двух однополярных и двух разнополярных (b, гистограмма).

Fig. 3. Kinetic curves (a) and effect of impact of different forms of impulses: monopolar impulse, two monopolar and two bipolar impulses (b, Histogramm).

Примечание: D — оптическая плотность суспензии, t, min — время, мин; Time after influence of impulse electric field — время после влияния импульсного электрического поля.

уменьшения числа эритроцитов больше по сравнению со скоростью уменьшения после воздействия двумя однополярными.

Из графиков и кинетических кривых следует, что при воздействии на мембраны двумя разнополярными импульсами, количество пробитых эритроцитов оказывается больше, чем при воздействии двумя однополярными или одиночным импульсом.

Закключение

Таким образом, при электрической дефибриляции сердца последовательно реализуются следующие процессы.

На первом этапе, в период до 1–3 мс с момента подачи разряда внешнее электрическое поле приложено к мембране кардиомиоцита, гиперполяризуя ее. При этом возможна дефибрилляция по механизму электрического пробоя. Но так как время действия поля на клетку в целом мало, то напряжение пробоя должно быть значительным, в 3–4 раза превышающим порог дефибрилляции.

На втором этапе, после деполяризации, если она превышает время, необходимое для приведения клеток миокарда в состояние адекватной гомогенной реполяризации, после задержки 300–500 мс сердце восстанавливает работу, т.е. реализуется эффект дефибрилляции. Пороговые и умеренные надпороговые величины разрядов столь же эффективны, но не вызывают существенных повреждений миокарда. В этом случае,

delay of 300–500 ms the restoration of heart activity occurred, i.e. the effect of defibrillation was successful. Threshold and moderate pulse magnitudes are equally effective but do not cause significant damage to myocardium. In this case, presumably, the main mechanism of cardiomyocyte membrane depolarization is initiated, and this defibrillation can be considered as an optimal one.

The effects of electrical impact of a single, two monopolar and two bipolar impulses are different, as shown in experiments (Fig. 3). Non-additivity of speeds at a double impact compared to single effect is observed. A single impulse causes less effect of electroporation than two double impulses. Two bipolar impulses more likely cause an effect of electroporation of biological membranes than two unipolar ones.

по-видимому, реализуется механизм деполяризации мембран кардиомиоцитов, и именно такая дефибрилляция может считаться оптимальной.

Эффекты электрического воздействия одиночного, двух однополярных и двух разнополярных импульсов различаются, что показано в экспериментах (рис. 3). Наблюдается неаддитивность скоростей при двухкратном действии по сравнению с однократным. Одиночный импульс вызывает меньший эффект электропорации, чем два двойных. Два разнополярных импульса с большей вероятностью вызывают эффект электропорации биологических мембран по сравнению с двумя однополярными.

Литература

1. Козлова Е.К., Мороз В.В., Богусевич М.С., Алексеева П.Ю., Черныш А.М. Влияние формы электрического импульса на электропорацию мембран эритроцитов. *Общая реаниматология*. 2005; 1 (1): 42–46. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-1-42-46>
2. Гурвич Н.Л. Основные принципы дефибрилляции сердца. М.: Медицина; 1975: 170.
3. Черныш А.М. Биомеханика неоднородности сердечной мышцы. М.: Наука; 1993: 372.
4. Мороз В.В., Богусевич М.С., Черныш А.М., Козлова Е.К., Шарахшанэ А.С. Экспериментальное исследование действия дефибриллирующих импульсов разной формы на биологические мембраны. *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2004; 137 (2): 140–144. <http://dx.doi.org/10.1023/B:BEVM.0000028118.86481.f6>. PMID: 15273753
5. Мороз В.В., Козлова Е.К., Богусевич М.С., Алексеева П.Ю., Черныш А.М. Влияние перфоратора на модифицированные электрическими импульсами мембраны эритроцитов. *Общая реаниматология*. 2005; 1 (3): 5–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-3-5-10>
6. Геннис Р. Биомембраны. М.: Мир; 1997: 624.
7. De Bruin K., Krassowska W. Modeling electroporation in a single cell. I. Effects of field strength and rest potential. *Biophys. J.* 1999; 77 (3): 1213–1224. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)76973-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495(99)76973-0). PMID: 10465736
8. Tovar O., Tung L. Electroporation of cardiac cell membranes with monophasic or biphasic rectangular pulses. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 1991; (11 Pt 2): 1887–1892. PMID: 1721194
9. Walcott G.P., Killingsworth C.R., Ideker R.E. Do clinically relevant transthoracic energies cause myocardial damage and dysfunction? *Resuscitation*. 2003; 59 (1): 59–70. [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572\(03\)00161-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572(03)00161-8). PMID: 14580735
10. Wenzel V., Voelckel W.G., Krismer A.C., Mayr V.D., Strohmenger H.U., Baubin M.A., Wagner-Berger H., Stallinger A., Lindner K.H.; American Heart Association; European Resuscitation Council. The new international guidelines for cardiopulmonary resuscitation: an analysis and comments on the most important changes. *Anaesthesist*. 2001; 50 (5): 342–357. PMID: 11417270
11. Богусевич М.С., Востриков В.А., Черныш А.М. Экспериментальные и теоретические проблемы электрической дефибрилляции сердца. *Вестн. РАМН*. 1997; 10: 36–44.
12. Востриков В.А., Сыркин А.Л., Холин П.В., Разумов К.В. Внутрибольничная дефибрилляция желудочков сердца: эффективность биполярного квазисинусоидального импульса. *Кардиология*. 2003; 43 (12): 51–58. PMID: 14671552
13. Мороз В.В., Богусевич М.С., Востриков В.А., Козлова Е.К., Черныш А.М. Влияние формы высоковольтного импульса на эффект дефибрилляции. *Анестезиология и реаниматология*. 2002; 6: 60–63. PMID: 12611162
14. Мороз В.В., Голубев А.М., Черныш А.М., Козлова Е.К., Васильев В.Ю., Гудкова О.Е., Сергунова В.А., Федорова М.С. Изменения структуры поверхности мембран эритроцитов при длительном хранении донорской крови. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (1): 5–12. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-5>
15. Чазов Е.И., Голицын С.П. Руководство по нарушениям ритмов сердца. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010: 409.
16. Мороз В.В., Голубев А.М., Козлова Е.К., Афанасьев А.В., Гудкова О.Е., Новодержкина И.С., Марченко Ю.В., Кузовлев А.Н., Заржецкий Ю.В., Костин А.И., Волков Д.П., Яковлев В.Н. Динамика морфологических изменений эритроцитов и биохимических показателей консервированной цельной крови в различные сроки хранения. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-5>
17. Мороз В.В., Черныш А.М., Богусевич М.С., Козлова Е.К., Близняк У.А., Алексеева П.Ю., Козлов А.П. Скрытые повреждения эритроцитарных мембран при физических и фармакологических воздействиях. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (5–6): 55–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-55-60>

Поступила 22.05.15

References

1. Kozlova E.K., Moroz V.V., Bogushevich M.S., Alekseyeva P.Yu., Chernysh A.M. Vliyaniye formy elektricheskogo impulsa na elektroporatsiyu membran eritrotsitov. *Obshchaya Reanimatologiya*. 2005; 1 (1): 42–46. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-1-42-46>. [In Russ.]
2. Gurvich N.L. Osnovnye printsipy defibrilyatsii serdtsa. [The basic principles of defibrillation]. Moscow: Meditsina Publishers; 1975: 170. [In Russ.]
3. Chernysh A.M. Biomekhanika neodnorodnosti serdechnoi myshtsy. [Biomechanics heterogeneity of the heart muscle]. Moscow: Nauka; 1993: 372. [In Russ.]
4. Moroz V.V., Bogushevich M.S., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Sharakhshane A.S. Eksperimentalnoye issledovaniye deistviya defibrillyuyushchikh impulsov raznoi formy na biologicheskie membrany. [Effect of defibrillation pulses of different shapes on biomembranes: experimental study]. *Byulleten Eksperimentalnoi Biologii i Meditsiny*. 2004; 137 (2): 120–123. <http://dx.doi.org/10.1023/B:BEVM.0000028118.86481.f6>. PMID: 15273753. [In Russ.]
5. Moroz V.V., Kozlova E.K., Bogushevich M.S., Alekseyeva P.Yu., Chernysh A.M. Vliyaniye perforatora na modifitsirovannye elektricheskimi impulsami membrany eritrotsitov. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Effect of perfluorane on electric pulse-modified red blood cell membranes. *General Reanimatology*]. 2005; 1 (3): 5–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-3-5-10>. [In Russ.]
6. Gennis R. Biomembranes. Moscow: Mir; 1997: 624. [In Russ.]
7. De Bruin K., Krassowska W. Modeling electroporation in a single cell. I. Effects of field strength and rest potential. *Biophys. J.* 1999; 77 (3): 1213–1224. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)76973-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495(99)76973-0). PMID: 10465736
8. Tovar O., Tung L. Electroporation of cardiac cell membranes with monophasic or biphasic rectangular pulses. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 1991; (11 Pt 2): 1887–1892. PMID: 1721194
9. Walcott G.P., Killingsworth C.R., Ideker R.E. Do clinically relevant transthoracic energies cause myocardial damage and dysfunction? *Resuscitation*. 2003; 59 (1): 59–70. [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572\(03\)00161-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572(03)00161-8). PMID: 14580735
10. Wenzel V., Voelckel W.G., Krismer A.C., Mayr V.D., Strohmenger H.U., Baubin M.A., Wagner-Berger H., Stallinger A., Lindner K.H.; American Heart Association; European Resuscitation Council. The new international guidelines for cardiopulmonary resuscitation: an analysis and comments on the most important changes. *Anaesthesist*. 2001; 50 (5): 342–357. PMID: 11417270
11. Bogushevich M.S., Vostrikov V.A., Chernysh A.M. Eksperimentalnye i teoreticheskie problemy elektricheskoi defibrilyatsii serdtsa. [Experimental and theoretical problems of electrical defibrillation]. *Vestnik RAMN*. 1997; 10: 36–44. [In Russ.]
12. Vostrikov V.A., Syrkin A.L., Kholin P.V., Razumov K.V. Vnutribolnichnaya defibrillyatsiya zheludochkov serdtsa: effektivnost bipolyarnogo kvazisinusoidalnogo impulsa. [Inpatient cardiac defibrillation: efficacy of bipolar sinusoidal impulse]. *Kardiologiya*. 2003; 43 (12): 51–58. PMID: 14671552. [In Russ.]
13. Moroz V.V., Bogushevich M.S., Vostrikov V.A., Kozlova E.K., Chernysh A.M. Vliyaniye formy vysokovoltного импульса на эффект дефибрилляции. [The shape of high-voltage impulse and the effect of defibrillation]. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2002; 6: 60–63. PMID: 12611162. [In Russ.]
14. Moroz V.V., Golubev A.M., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Vasilyev V.Yu., Gudkova O.E., Sergunova V.A., Fedorova M.S. Izmeneniya struktury poverkhnosti membran eritrotsitov pri dlitelnom khraneniі donorskoi krovi. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Structural changes in the surface of red blood cell membranes during long-term donor blood storage. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (1): 5–12. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-5>. [In Russ.]
15. Chazov E.I., Golitsyn S.P. Rukovodstvo po narusheniyam ritmov serdtsa. [Guidelines for heart rhythm disturbances]. Moscow: GEOTAR-Media; 2010: 409. [In Russ.]
16. Moroz V.V., Golubev A.M., Kozlova E.K., Afanasyev A.V., Gudkova O.E., Novoderkhina I.S., Marchenkov Yu.V., Kuzovlev A.N., Zarzhetsky Yu.V., Kostin A.I., Volkov D.P., Yakovlev V.N. Dinamika morfologicheskikh izmenenii eritrotsitov i biokhimicheskikh pokazatelei konservirovannoi tselnoi krovi v razlichnyye sroki khraneniya. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Time course of morphological changes in red blood cells and stored whole blood biochemical parameters in different storage periods. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (1): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-5>. [In Russ.]
17. Moroz V.V., Chernysh A.M., Bogushevich M.S., Kozlova E.K., Bliznyuk U.A., Alekseyeva P.Yu., Kozlov A.P. Skrytye povrezhdeniya eritrotsitarnykh membran pri fizicheskikh i farmakologicheskikh vozdviyakh. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Occult erythrocytic membrane damages upon physical and pharmacological exposures. *General Reanimatology*]. 2006; 2 (5–6): 55–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-55-60>. [In Russ.]

Submitted 22.05.15